

ДОКЛАДЫ

АКАДЕМИИ НАУК БССР

1975
ТОМ XIX
№ 9



УДК 577.158.4 : 591.105 : 615.9

В. Н. НИКАНДРОВ

**ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ
В ТКАНЯХ КРЫС, ВЫЗВАННЫЕ ВВЕДЕНИЕМ
ГАЛОИДЗАМЕЩЕННЫХ АРОМАТИЧЕСКИХ ОКСИКИСЛОТ***(Представлено академиком АН БССР Р. С. Чеботаревым)*

Были показаны ⁽¹⁾ изменения активности малатдегидрогеназы (МДГ; 1.1.1.37; L — малат : НАД — оксидоредуктаза) в тканях животных после однократного введения дихлорфеноксиацетата в относительно небольшой дозе. Чаще имеет место поступление препарата в организм малыми дозами в течение длительного времени. В настоящее время в литературе фактически отсутствуют материалы о состоянии путей метаболизма при длительном действии хлорфеноксисоединений. В связи с этим было изучено на гетерозиготных крысах линии Вистар воздействие ежедневных в течение 6 месяцев затравок (перорально) аммонийной солью 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-ДА) и 2-метил-4-хлорфенокси- γ -бутиратом (2М-4ХМ) на общую, свободную и связанную активность МДГ ⁽²⁾ в головном мозгу, печени и икроножных мышцах. Активность МДГ в сыворотке крови исследовали для характеристики состояния клеточно-плазматического градиента. Крысам I и II опытных групп (по 50 голов) вводили за один раз по 10 мг/кг соответственно 2,4-ДА или 2М-4ХМ; III и IV группам (по 25 крыс) — по 5 мг/кг препаратов; V и VI (по 25 крыс) — по 1 мг/кг 2,4-ДА или 2М-4ХМ соответственно. Сорока крысам контрольной группы вводили воду в соответствующем количестве. Активность МДГ в сыворотке крови исследовали ежемесячно, выражая ее в 1 мкМ пирувата на 100 мл сыворотки. При наличии сдвигов в последней определяли активность энзима в тканях в 1 мкМ пирувата на 1 г ткани и в 1 мкМ пирувата за 1 мин на 1 мг белка ⁽³⁾. Гомогенизирование тканей и солюбилизацию связанной формы энзима тритоном X-100 проводили, как подробно описано ранее ^(1, 4). Результаты обработаны статистически ⁽⁵⁾.

Введение 2,4-ДА в дозе 10 мг/кг через 1 месяц повысило активность МДГ в сыворотке крови (рис. 1), не изменяя общую активность энзима в тканях (рис. 2). Однако активность МДГ в сыворотке контрольных животных более чем в 500 раз ниже общей активности энзима в тканях (сыворотка — 220—290 мкМ пирувата на 100 мл; печень — 1400—1600 мкМ пирувата на 1 г). Видимо, можно допустить, что повышение активности МДГ в сыворотке сопряжено с какими-то минимальными повреждениями клетки, влекущими резкую перестройку клеточно-плазматического градиента ⁽⁶⁾. Кроме того, возможны изменения проницаемости мембран иных органов: миокарда и почек. В тканях отмечена некоторая тенденция форм МДГ к перераспределению из-за возможного изменения физико-химических свойств мембран субклеточных частиц ^(1, 4, 7) и определенная специфика в действии на связанную МДГ мышц.

Изменения удельной активности общей МДГ в мышцах составили: контроль — 2,77; опыт—2,15. Через 6 месяцев после начала опыта 2,4-ДА в указанной дозе в мозгу перераспределила активность между формами МДГ. В мышцах, несмотря на кажущееся перераспределение, сдвиги удельной активности были следующими: свободная МДГ — 1,92 (контроль) против 3,08 (опыт); общая МДГ — 1,99 против 3,00 соответственно. В печени изменения носили аналогичную направленность: удельная активность свободной МДГ — 1,85 (контроль) против 2,41 (опыт) и общая МДГ — 2,01 против 2,50. В тех случаях, где изменения удельной активности не оговорены, подразумевается однотипный сдвиг с актив-

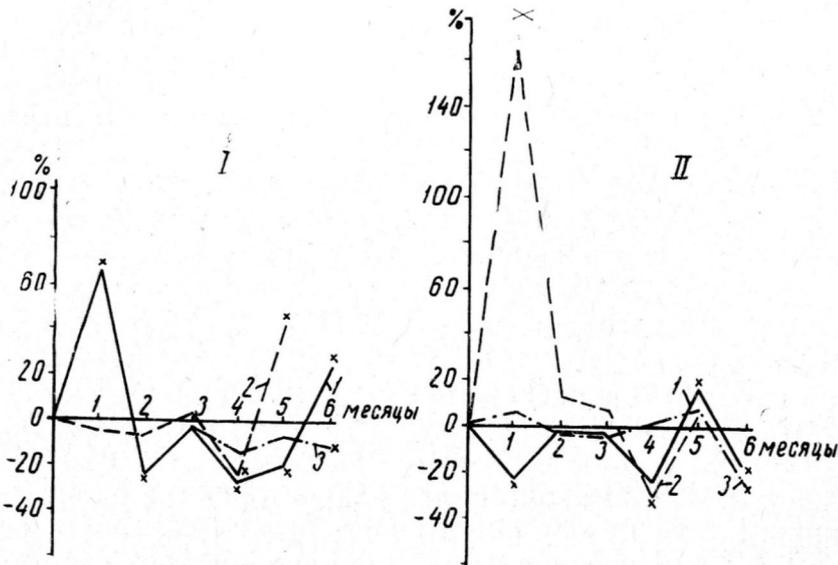


Рис. 1. Влияние 2,4-ДА (I) и 2М-4ХМ (II) в дозах 10 (I); 5 (2) и 1 мг/кг (3) на активность малатдегидрогеназы (% к контролю) сыворотки крови крыс. Крестиками отмечены достоверные изменения

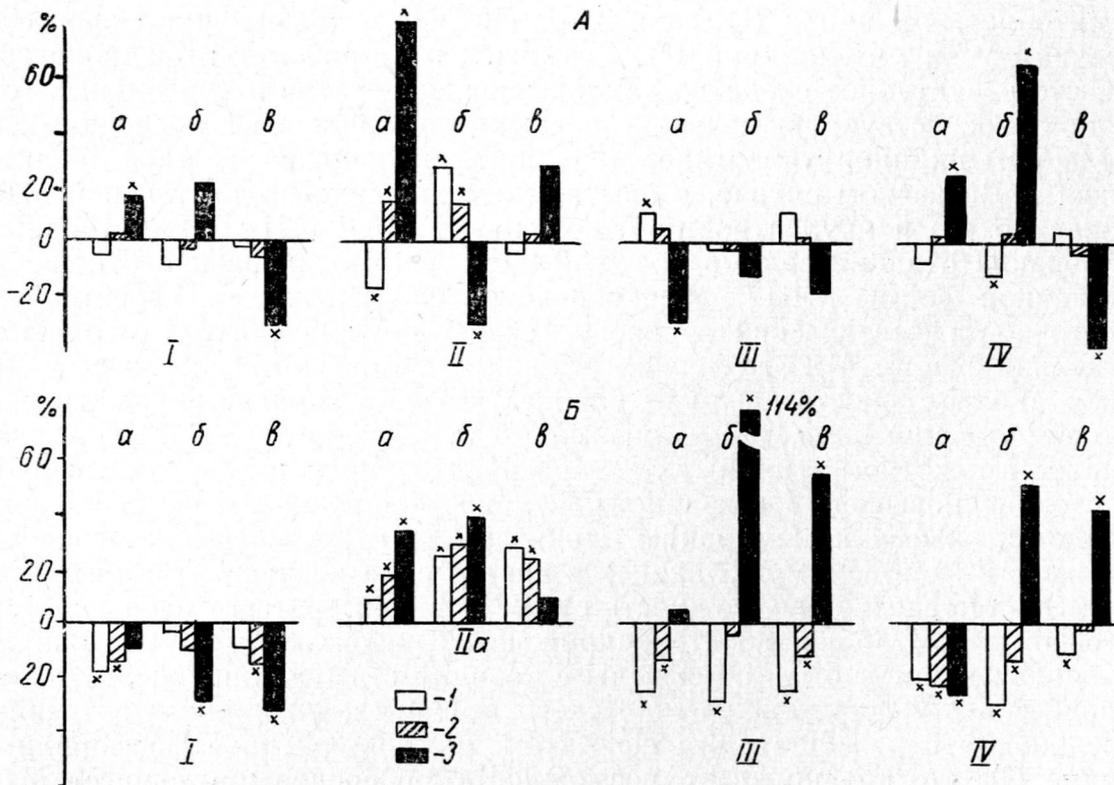


Рис. 2. Изменения активности малатдегидрогеназы (% к контролю) в головном мозгу (а), печени (б) и икроножной мышце (в) белых крыс после введения 2,4-ДА (А) или 2М-4ХМ (Б): I — 10 мг/кг (1 месяц); II — 5 мг/кг (3 месяца), IIа — 5 мг/кг (1 месяц); III — 10 мг/кг (6 месяцев); IV — 1 мг/кг (6 месяцев). Крестиками отмечены достоверные изменения, 1 — свободная, 2 — общая, 3 — связанная активность МДГ

ностью на 1 г ткани. Изменения МДГ-активности в сыворотке крови в этот период, видимо, имели природу, аналогичную описанной выше. Введение препарата в дозе 5 мг/кг через 3 месяца после начала затравок способствовало усилению дегидрирования малата в мозгу из-за связанной МДГ, а в печени — свободной МДГ. Сдвиги удельной активности общей и свободной МДГ в мозгу были противоположны описанному. В дозе 1 мг/кг агент обусловил направленность изменений, за исключением удельной активности, аналогичную таковой для 10 мг/кг (1 месяц). В печени отмечена активация связанной МДГ за счет свободной. Возможные причины несовпадения направленности сдвигов МДГ-активности в пересчете на белок с таковыми в расчете на 1 г сырой ткани оговорены ниже.

Введение 2М-4ХМ в дозе 10 мг/кг через 1 месяц подавляло МДГ-активность в тканях, а через 6 месяцев активность энзима в растворимой фазе клетки остается угнетенной, но в печени и скелетной мышце нарастает связанная активность МДГ. Энзиматическая активность сыворотки крови в эти периоды снижалась. Затравки соединением в дозе 5 мг/кг через 1 месяц резко активировали МДГ в крови и тканях, но удельная активность связанной МДГ не изменялась по сравнению с контролем, а в мышечной ткани удельная активность общей МДГ ниже, чем свободной (4,84 и 5,82 соответственно), что скорее всего сопряжено с возможным изменением каталитических свойств молекул энзима. Сдвиги активности МДГ в тканях после введения 2М-4ХМ в дозе 1 мг/кг в течение 6 месяцев были однотипны в целом с таковыми для 10 мг/кг. Воздействие микродоз 2М-4ХМ вызвало более разносторонние сдвиги активности МДГ в тканях, влияя на обе формы энзима. Отмеченное в ряде моментов (чаще с 2,4-ДА) несовпадение направленностей сдвигов удельной активности и активности на 1 г ткани предполагает воздействие либо на эпигенетическую систему клетки, либо на протеолитические процессы. Без этого трудно понять, как, концентрируясь почти исключительно в цитоплазме и ядрах (8), соли 2,4-Д специфически изменяют энергетический обмен митохондрий (9). Возможен и второй путь: предполагается, что структурное сходство дихлорфеноксиацетатов и тиреоидных гормонов способствует включению первых, по аналогии с последними, в молекулы пиридиннуклеотидов (10), синтезирующихся в ядре и цитоплазме. Во всяком случае, в опытах с очищенной растительной МДГ показано (11) конкурентное по отношению к НАД и НАДН (+Н⁺) ингибирование реакции солями 2,4-Д. 2,4-ДА весьма активен в отношении связанной формы МДГ, перераспределяя формы энзима, перестраивая клеточно-плазматический градиент. Сопоставление сдвигов активности отдельных форм МДГ в тканях и энзиматической активности сыворотки дает возможность в ряде случаев предположить «специфичность» вклада той или иной формы энзима в сдвиг сывороточной МДГ. Отмеченное в некоторых моментах перераспределение между формами МДГ в сторону повышения связанной активности предполагает увеличение сродства энзима к мембранам. Показана (12, 13) зависимость сродства энзимов к мембранам от баланса в клетке ряда ингредиентов цитоплазмы. Это определяет возможность существования третьего пути действия агентов на метаболизм митохондрий через цитоплазму. Не все описанные сдвиги могут быть объяснены с позиций стимуляции окислительных процессов в условиях энергетического дефицита, вызванного введением соединений с разобщающим эффектом на сопряженное фосфорилирование (9), что предполагает возможность опосредования сдвигов МДГ через сопряженные пути метаболизма: прежде всего трансаминирование. В ходе последнего образуется оксалацетат, способный ингибировать ряд реакций ЦТК в условиях подавления его трансформаций: синтез цитрата, глюконеогенез, трансаминирование. Показано также (14) существование малат-лактат-трансгидрогеназного пути, связываю-

шего непосредственно обмен малата с терминальной стадией гликолиза — одного из ведущих факторов организации энергетического метаболизма ядер и цитоплазмы.

Белорусский научно-исследовательский
ветеринарный институт

Поступило 27.V 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. Н. Никандров, Депонировано ВИНТИ, № 6566-73 Деп. ² M. Sevela, J. Tovarek-Cas. lek. čes., **99**, 1487, 1960. ³ O. H. Lowry, C. N. Rosenbrough, A. L. Fagg, J. Biol. Chem., **193**, 265, 1951. ⁴ В. Н. Никандров, сб. «Биохимия», вып. 2, 31, Минск, 1974. ⁵ И. П. Ашмарин, Н. Н. Васильев, В. А. Амбросов, Быстрые методы статистической обработки и планирование экспериментов, Л., 1971. ⁶ С. Данев, Лабор. дело, № 4, 199, 1973. ⁷ В. Н. Никандров, сб. «Вторая конференция Белорусского биохимического общества. Тезисы докладов», Минск, 1974, 158. ⁸ S. Khanna, S. C. Fang, J. Agr. Food Chem., **14**, 5, 500, 1966. ⁹ С. Ю. Буслевич, Ф. Д. Колдобская, С. В. Мараховская, сб. «Биохимия», вып. 1. 13, Минск, 1973. ¹⁰ G. Medgyesi, K. Katona, Pharm. Zentr. für Deutsch., **100**, 8, 375, 1961. ¹¹ Д. И. Чкаников, М. С. Соколов, Гербицидное действие 2,4-Д и других галоидфеноксикислот, М., 1973. ¹² K. Letko, T. Höfs, W. Liese, Acta biol. med. germ., **30**, 3, 365, 1973. ¹³ H. A. Hultin, J. D. Ehmman, K. L. Melnick, J. Food Sci., **37**, 2, 269. ¹⁴ S. H. Georg Allen, Angew. Chem., **84**, 18, 901, 1972.